

흰쥐 뇌 선조체내 신경세포의 전자현미경적 관찰

이화여자대학교 의과대학 해부학교실

이희래

## =Abstract=

## An Electron Microscopic Study of Neurons in the Neostriatum of Rat

Hee Lai Lee

Department of Anatomy, College of Medicine, Ewha Womans University

The present study was done to define the morphological characteristics of neurons in the rat neostriatum. The rats were perfused with 1% paraformaldehyde and 2% glutaraldehyde fixative in phosphate buffer at pH 7.4. Tissues from caudate nucleus were postfixed with 2% osmium tetroxide in phosphate buffer at pH 7.4, and dehydrated in graded ethanol and acetone, and embedded in Epon 812. The polymerization was carried out in a 60°C oven. The ultrathin sections were contrasted with uranyl acetate and lead citrate, and examined with a Siemens Elmiskop IA.

Four morphologically different types of neurons were classified. (1) The large neurons were often elongated or spindle shapes, measured 25~30 $\mu$ m in diameter. They had an indented nucleus and contained large amount of cytoplasm with many stacks of granular endoplasmic reticulum, concentration of ribosomes and rich Golgi cisternae. (2) The medium-sized, polygonal neurons were pyramid or polygonal shapes, measured 14~20 $\mu$ m in diameter. All neurons of this type had a spherical, unindented nucleus and moderate cytoplasm of pale cytoplasm with relatively small amount of granular endoplasmic reticulum and ribosomes. (3) The medium sized, ovoid neurons were the most common neostriatal cells. These neurons were ovoid or spherical shapes, measured 12~20 $\mu$ m in diameter. They contained small quantities of Golgi cisternae in the dark cytoplasm. (4) The small neurons were the least common cells in the striatum. They had a distinctive nucleus, usually with a single indentation and contained little Golgi apparatus and few cisternae of granular endoplasmic reticulum.

三

알려져 있다.

선조체 내에 분포하는 신경세포에 관해서는 형태학적, 전기생리학적 및 생화학적 방법으로 많은 연구업적이 보고되고 있다. 형태학적 연구로서 Mori(1966)는 흰쥐에서 선조체의 신경세포는 소형과 대형 I, II 등 3형으로 구분한 바 있고 그후 Adinolfi & Pappas(1968)는 고양이의 선조체에서 2종류의 신경세포 즉 대형과 소형 신경세포로 구분하여 보고한 바 있다. 또 Kemp & Powell(1971)는 고양이에서 소형, 대형, 수상돌기

소극이 많은 중간형 및 수상들기 소극이 적은 중간형 신경세포등 4형으로 구분한 바 있고, Fox et al.(1971/72)들도 원숭이의 선조체에서 Golgi 방법을 이용하여 4가지형의 신경세포를 구분한 바 있다.

한편 최근에 전기생리학적 및 생화학적 연구결과에 의하면 선조체에서는 Acetylcholine을 함유하고 있는 선조체내 고유신경세포(Lynch et al., 1972, Butcher & Butcher, 1974)와 GABA 또는 Substance P를 합성하며 담창구와 흑질로 원심성 섬유를 투사하는 신경세포가 있음을 시사하고 있다(Yoshida & Precht, 1971, Fornum et al., 1978, Hong et al., 1977a).

위의 연구결과들을 검토하여보면 학자에 따라 다소 다른 소견을 보이고 있지만 대체적으로 포유류의 선조체 내에는 최소한 3종류 이상의 다른 신경세포가 구분될 수 있을 것으로 추정된다. 이와같은 사실에 따라 최근에는 형태학적으로 분류된 신경세포들과 전기생리학적 또는 생화학적으로 분류되는 신경세포들과의 상호연관 관계를 규명하는 조직화학적 또는 자기방사법 방법을 이용한 연구들이 시도되고 있다.

이에 본 연구는 선조체 내에 분포하는 신경세포들의 미세구조적 특성을 전자현미경 관찰로서 명확히 파악하여 분류함으로서 선조체내의 신경세포를 분류하는데 획일성을 찾고 따라서 조직화학적 방법을 비롯하여 기타 방법에 의한 연구의 기초자료가 되고자 시도하였다.

## 재료 및 방법

실험동물은 체중 약 250g 내외의 성숙한 흑쥐를 사용하였다. 실험동물은 nembutal 마취하에서 1% paraformaldehyde 및 2% glutaraldehyde 혼합액(phosphate buffer pH 7.4)을 대동맥을 통하여 판류고정한 상태에서 2시간 방치하였다. 두개풀을 제거한 다음 뇌를 같은 고정액에 18시간 담가두었고 완전고정된 뇌로부터 직경 1.5mm 금속판을 이용하여 절단된 뇌의 단면에서 미상핵 조직편을 절취하였다. 절취한 조직은 2% osmium tetroxide(phosphate buffer pH 7.4) 고정액에서 2시간동안 후고정하였고, ethyl alcohol과 acetone series에서 탈수한 후 Epon 812에 포매하고 60°C oven에서 3일간 중화시켰다. 조직의 부위를 확인하기 위하여 조직편은 semithin sections을 만들어 toluidine blue로 염색하여 관찰한 후 초박절편을 만들었고 이들은 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하여 관찰하였다.

## 성 적

선조체 조직내에서 신경세포들은 그들의 형태학적

특징에 의하여 신경교세포로부터 쉽게 구별 되었다. 신경세포들은 크기, 모양 및 세포질내에 존재하는 여러 구조물의 분포에 따라서 다음과 같은 4종류의 세포로 구별할 수 있었다.

### 1. 대형 신경세포(large neuron)

이 부류에 속하는 신경세포들의 모습은 타원형 또는 방추형이고 크기는 대략 25~30 $\mu\text{m}$  이상이며 핵은 세포질의 중앙에 위치하면서 핵막의 심한 만곡을 보이고 있다. 세포질내에는 조면내형질 세망이 세포질 주변부에 풍부하게 발달되어 있고, 핵 주변부에는 여러개의 Golgi 복합체의 발달이 뚜렷하다. 세포질 전반에 걸쳐 ribosome은 고루 분포하고 사립체는 조면내형질세망과 Golgi 복합체 부위를 제외한 세포질내에 다양 분산되어 있으며 전자밀도가 높은 직경 0.4 $\mu\text{m}$  정도의 lysosome류의 구조물들이 비교적 많이 관찰되었고 때로는 2차 lysosome 류 형태의 구조물도 볼 수 있었다. 세포질로부터 분지된 수상돌기들의 수는 비교적 적고 가끔 축삭 세포체연접을 관찰할 수 있었다(그림 1).

이 부류의 신경세포는 선조체내에서 아주 드물게 관찰되었으며 대략 전체 세포수의 약 2% 정도를 차지하였다.

### 2. 중형 다각형 신경세포(medium-sized, polygonal neuron).

단면상에서 비교적 많은 수상돌기를 갖고있는 피라미드 또는 다각형의 모습으로 보이는 신경세포로서 크기는 14~20 $\mu\text{m}$  정도였다. 핵은 세포질 중앙에 위치하여 핵막의 만곡은 적어서 구형을 유지하였다. Mitochondria는 세포질내에 고루 분산되어 분포하고 핵 둘레에는 여러개의 Golgi 복합체가 자리잡고 있었다. 조면내형질세망은 비교적 발달이 미약한 편으로 세포질내에서 부분적으로 좁은 구역에 산재하며, ribosome은 많지 않으므로 세포질이 비교적 밝게 나타냈다. 또 0.2~0.6 $\mu\text{m}$  직경의 lysosome 류의 구조물은 드물게 출력되었고 부분적으로 neurofilaments가 밀집되어 있었다. 세포체와 수상돌기에서 자주 연접을 볼수 있었고 이 부류의 신경세포는 선조체 전체 세포수의 약 46% 정도를 차지하였다(그림 2).

### 3. 중형 구형 신경세포(medium sized, ovoid neuron)

단면상에서 수상돌기의 수가 적고 대체로 난원형, 방추형 또는 구형등의 모습으로 보이는 신경세포로 크기는 12~20 $\mu\text{m}$  이었다. 핵은 세포질 중앙에 위치하고 대체로 둥글며 핵막은 때로는 약간의 만곡으로 보인다. Mitochondria도 비교적 적은 수로 세포질 전반에 분산분포하며, Golgi 복합체는 핵 주변부에서 2~3부

위에 편중되어 분포하며 특히 수상돌기가 분지하는 부위의 근처에 발달되어 있다. rER은 세포질 전반에 걸쳐 발달되었고 풍부한 ribosome의 분포와 많은 neurofilaments의 분포로 세포질은 비교적 어둡게 보인다. 크기가 작고 전자밀도가 높은 소량의 lysosomal structure는 드문드문 관찰된다. 세포체와 수상돌기에서 드물게 연접을 관찰할 수 있었고 이 부류의 세포 수는 전체 선조체 세포의 약 51%정도를 차지하였다(그림 3).

#### 4. 소형 신경세포(small neuron)

구형 또는 난원형의 세포로 세포의 윤곽이 비교적 불규칙한 편이며 크기는 8~13 $\mu\text{m}$  정도이다. 핵은 세포질의 중앙에 위치하여 핵막의 만곡이 적고, 세포질 내에 mitochondria는 고루 분산되어 분포하며 rER과 Golgi complex의 발달은 비교적 미약한 편이지만, 풍부한 ribosome은 세포질 전반에 고루 분산되어 있고 lysosomal 구조들은 극소수로 드물게 관찰되었다. 세포체와 연접을 이루는 경우는 적었고 이 세포 수는 매우 드물었으며 선조체내 전체 세포의 약 1%정도를 차지하였다(그림 4).

### 고 졸

선조체내에 분포하는 신경세포들을 전자현미경으로 관찰하였던 바 다음 4가지 부류의 세포로 구분할 수 있었다. 즉 (1) 대형세포; 타원형 또는 방추형의 모습을 보이는 큰 신경세포(25~30 $\mu\text{m}$ ), (2) 중형 다각형 세포; 중형의 크기(14~20 $\mu\text{m}$ )이며 비교적 세포질이 밝고 다각형의 모습으로 보이는 세포, (3) 중형 난원형세포; 중형의 크기로 비교적 세포질이 어둡고 구형의 모습을 띠는 세포, (4) 소형세포; 드물게 볼수 있었으며 크기가 작은 세포(8~13 $\mu\text{m}$ ) 등으로 구분할 수 있었다.

위와 같이 구별된 세포들을 다른 학자들의 관찰소견과 비교 검토하여 보면, 먼저 대형 신경세포의 경우 Adinolfi & Pappas(1968)와 Kemp & Powell(1971)은 고양이에서, Lu & Brown(1977)은 흑쥐에서, Pasik et al.(1979)은 원숭이에서 관찰한 대형 신경세포와 같은 부류로서 이를 학자들도 선조체에서 대형세포는 한가지 무리 뿐인 것으로 생각하여 본 실험의 결과와 같은 소견을 보이고 있다. 한편 Mori(1966)는 흑쥐에서 이 범주에 속하는 신경세포들을 다시 두 무리 즉 삼각형 모양의 Golgi I형 신경세포와 다각형의 Golgi II형 세포로 구분하였고 또 Rafols & Fox(1979)는 원숭이에서 수상돌기가 많고 난원형인 대형 신경세포와 수상돌기가 적고 삼각형인 대형 신경세포로 구분한 바 있다.

이와 관련된 또 다른 연구로 Grofova(1975), DiFiglia et al. (1976), Kitai et al. (1976)등은 선조체내의 대형 신경세포는 긴 축삭을 갖고 있으며 원심성 신경섬유는 모두 이를 대형세포에서 기원한다고 보고하고 있어 Mori(1966)의 대형세포 가운데 신경축삭이 짧은 Golgi II형 세포가 있다는 의견은 문제가 있다고 하겠으며, Rafols & Fox(1979)에 의하여 분류된 수상돌기가 많은 세포는 DiFiglia et al.(1976)의 대형 신경세포와 일치하므로 본 실험의 대형 신경세포와도 일맥상통하지만 수상돌기가 적은 세포는 DiFiglia et al.(1976)의 중형세포와 일치하므로 따라서 본 실험의 중형 다각형 신경세포와도 같은 종류의 세포로 볼 수 있다. 결국 선조체 내에서는 전자현미경상 대형 신경세포는 대체로 한 부류로 구분할 수 있었는데 많은 생화학적 또는 약리학적 연구에 의하여 선조체 및 담창구 신경세포는 Enkephalin(Hong et al. 1977a, Pollard et al. 1978), 선조체-흑질 신경세포는 GABA(Kim et al. 1971, Hattori et al. 1973)와 Substance P (Hong et al., 1977b, Kanazawa et al., 1977, Jessell et al., 1978)등의 신경전달물질에 관여한다고 보고 되었다. 그러므로 대형세포가 선조체 내에서 원심성 신경섬유의 기원이 된다면 이를 여러가지 신경전달물질과 대형 신경세포와는 밀접한 관계가 있을 것이 명확하지만 그의 상관 관계를 직접적으로 관찰하기 위해서는 앞으로 보다 상세한 조직화학적 연구가 요구된다고 하겠다.

중형 신경세포의 경우 본 연구에서는 중형 다각형과 중형 난원형 신경세포 등 두 부류로 구분하였다. 중형 다각형 신경세포와 관련된 다른 연구결과를 보면 Mori (1966), Adinolfi & Pappas (1968)의 소형 신경세포, Kemp & Powell (1971)의 중형 수상돌기 소극 신경세포, Lu & Brown (1977)의 긴 축삭을 갖는 중형 신경세포, Rafols & Fox (1979)의 수상돌기가 많은 중형 신경세포와 그의 Pasik, et al. (1979)의 긴 축삭을 갖는 Spiyn I세포등은 여러가지 세포학적 소견에 따라 모두 이 부류에 속하는 동일형의 세포라고 생각할 수 있다. 중형 난원형 신경세포와 관련된 다른 연구결과를 보면 Mori (1966)의 소형세포와 Kemp & Powell (1971)의 Golgi 방법에 의하여 구분된 바 있는 긴 축삭을 갖는 중형세포, 수상돌기의 팽대가 많은 중형세포와 팽대가 적은 중형세포 등이 모두 이 부류에 속한다고 할 수 있겠다. 또 Rafols & Fox (1979)의 수상돌기가 적은 중형세포 및 수상돌기 팽대가 많은 중형세포와 Lu & Brown(1977)의 중형 방추형 세포 및 긴 수상돌기를 갖는 중형세포 등도 이 부류에 속한다고 할 수 있다. 특히 이 부류의 세포를 구분하는데 있어

서 흥미있는 사실은 DiFiglia(1976)는 이들 세포는 수상돌기 소극이 많은 세포(small spiny neuron)로서 선조체 내의 고유신경세포로 생각한데 반하여 Pasik et al.(1979)는 이들 세포는 모두 수상돌기 소극이 적은 선조체 내의 고유신경 세포(aspyrin I, II, III.)로 생각하였다. 어떻든 위의 Golgi 방법에 의하여 구분된 여러 종류의 세포들은 전자현미경 관찰에서는 중형 난원형 신경세포류에 해당한다고 볼 수 있다.

한편 생화학적 연구에 의하여 선조체내에 존재하는 고유신경세포는 신경전달물질 Acetylcholin(McGeer & McGeer, 1971, Lynch et al. 1972)과 GABA(McGeer & McGeer, 1975, Spehlmann et al. 1977)의 대사에 관여한다고 보고하였든 바 이들 화학물질과 중형 신경세포와의 상관관계를 규명하는 것은 매우 흥미있는 일이라 하겠다. 본 실험에서 관찰된 소형 신경세포에 관해서는 Kemp & Powell(1971), Lu & Brown(1977), Rafols & Fox(1979) 등에 의하여 표현된 소형신경세포와 Pasik et al.(1979)이 발표한 신경교세포형 신경세포와 같은 부류임을 알 수 있었다.

위의 사실들을 제겸토해 보면 이미 발표된 문헌상 선조체 내에서 신경세포는 실험동물 또는 연구방법 등에 따라서 대체로 2가지 이상 6가지 정도로 구분 됐지만 본 연구에서는 전자현미경 관찰 결과 4가지의 형태가 다른 세포로 분류할 수 있었다. 선조체 내에서 이들 세포와 원심성 또는 구심성 섬유와의 관계, 신경전달 물질과의 상호관계를 유지하기 위해서는 앞으로 더욱 연구해야 할 과제라고 생각한다.

## 결 론

본 실험은 선조체 내에 분포하는 신경세포의 미세구조를 관찰하기 위하여 시도되었다. 성숙한 흰쥐의 nembutal 마취 하에 고정액인 1% paraformaldehyde 와 2% glutaraldehyde 로 전고정하고 2% osmium tetroxide 로 후고정하여 전자현미경 표본을 작성한 후 관찰한 바 선조체내 신경세포는 형태학적 특성에 따라 다음 4종류의 세포로 구분할 수 있었다.

1) 대형 신경세포 : 타원형 또는 방추형의 세포로 크기는 대략 25~30 $\mu\text{m}$  정도이며 수는 적고(약 2%) 핵은 심한 만곡을 보이고 세포질 내 여러 소기관은 풍부하게 발달되어 있다.

2) 중형 다각형 신경세포 : 삼각형 또는 다각형의 세포로 크기는 14~20 $\mu\text{m}$  정도이며 수는 비교적 많으며(약 46% 정도) 핵의 만곡은 적고 세포질은 비교적 짙게 보이며 조면내형질세포 및 ribosome 이 적게 나타

났다.

3) 중형 난원형 신경세포 : 선조체내에 가장 많이 볼 수 있는 난원형 또는 구형의 세포(약 51%)로 크기는 12~20 $\mu\text{m}$ 이며 핵은 약간의 만곡이 있고 세포질은 비교적 어둡게 보이며 Golgi 복합체의 발달이 비교적 미약하다.

4) 소형 신경세포 : 세포의 윤곽이 비교적 불규칙한 세포로서 크기는 8~13 $\mu\text{m}$  정도이며 수는 매우 적고(1% 정도) 핵의 만곡은 적고 조면내형질세포 및 Golgi 복합체의 발달이 미약하다.

## —References—

- 1) Adinolfi A.M. & G.D. Pappas: The fine structure of the caudate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.* 133 : 167~184, 1968.
- 2) Butcher S.G. & L.L. Butcher: Origin and modulation of acetylcholine activity in the neostriatum. *Brain Res.* 71 : 167~171, 1974.
- 3) DiFiglia M., P. Pasik & T. Pasik.: A Golgi study of neuronal types in the neostriatum of monkey. *Brain Res.* 114 : 245~256, 1976.
- 4) Domesick V. B: The topographic organization of the striatonigral connection in the rat. *Anat. Rec.* 187 : 567, 1977.
- 5) Fonnum F., Z. Gottesfeld & I. Grofova: Distribution of glutamate decarboxylase, choline acetyl transferase and aromatic amino acid decarboxylase in the basal ganglia of normal and operated rats. Evidence for striatopallidal, striatoentopeduncular and striatonigral gabaergic fibers. *Brain Res.* 143 : 125~138, 1978.
- 6) Fox C. A., A.N. Andrade, D.E. Hillman & R. Schwyn: The spiny neurons in the primate striatum. A Golgi and electron microscopic study. *J. Hirnforsch.* 13 : 181~201, 1971/72.
- 7) Grofova I.: The identification of striatal and pallidal neurons projecting to substantia nigra. An experimental study by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 91 : 286~291, 1975.
- 8) Hattori T., P.L. McGeer, H.C. Fibiger & E.G. McGeer: On the source of GABA-containing terminals in the substantia nigra. Electron microscopic autoradiographic and biochemical studies.

- Brain Res. 54 : 103—114, 1973.
- 9) Hong J. S., H.Y.T. Yang & E. Costa: On the location of methionine enkephalin neurons in rat striatum. *Neuropharmacology* 16 : 451—453, 1977a.
  - 10) Hong J. S., H.Y.T. Yang, G. Racagni & E. Costa: Projection of Substance P containing neurons from neostriatum to substantia nigra. *Brain Res.* 122 : 541—544, 1977b.
  - 11) Jessell T.M.: Substance P release from the rat substantia nigra. *Brain Res.* 151 : 469—478, 1978.
  - 12) Kanazawa I., P.C. Emson & A.C. Cuello: Evidence for the existence of Substance P-containing fibers in strio-nigral and Pallido-nigral Pathways in rat brain. *Brain Res.* 119 : 447—453, 1977.
  - 13) Kemp J.M. & T.P.S. Powell: The structure of the caudate nucleus of the cat: light and electron microscopy. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 262 : 283—401, 1971.
  - 14) Kim J. S., I.J. Bak, R. Hassler & Y. Okada: Role of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in the extrapyramidal motor system. Part 2, some evidence for the existence of a type of GABA-rich strio-nigral neurons. *Exp. Brain Res.* 14 : 95—104, 1971.
  - 15) Kitai S. T., J.D. Kocsis, R.J. Preston & M. Sugimori: Monosynaptic inputs to caudate neurons identified by intracellular injection of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 109 : 601—606, 1976.
  - 16) Lu E.J. & W.J. Brown: The developing caudate nucleus in the euthyroid and hypothyroid rat. *J. Comp. Neurol.* 171 : 261—284, 1977.
  - 17) Lynch G. S., P.A. Lucas & S.A. Deadwyler: The demonstration of acetylcholinesterase containing neurons within the caudate nucleus of the rat. *Brain Res.* 45 : 617—621, 1972.
  - 18) McGeer P.L. & E.G. McGeer: Cholinergic enzyme systems in Parkinson's disease. *Archs Neurol.* Psychiat. Chicago 25 : 265—268, 1971.
  - 19) McGeer P.L. & E.G. McGeer: Evidence for glutamic acid decarboxylase-containing interneurons in the neostriatum. *Brain Res.* 91 : 331—335, 1975.
  - 20) Mori S. O: Some observations on the fine structure of the corpus striatum on the rat brain. *Z. Zellforsch.* 70 : 461—488, 1966.
  - 21) Nauta W.J.H. & W.R. Mehler: Projections of the leutiform nucleus in the monkey. *Brain Res.* 1 : 3—42, 1966.
  - 22) Pasik T.P. Pasik & M. DiFiglia: Interneurons in the necstriatum of monkeys. In I. Divak & R.G. E. Oberg (eds) 1979. *The necstriatum*, pp. 5~36, Pergamon Press, Oxford.
  - 23) Pollard H., C. Llorens, J.C. Schwartz, C. Gros & F. Dray: Localization of opiate receptors and enkephalins in the rat striatum in relationship with the nigrostriatal dopaminergic system: lesion studies, *Brain Res.* 151 : 392—398, 1978.
  - 24) Rafols J.A. & C.A. Fox: Fine structure of the primate striatum, *Appl. Neurophysiol.* 42 : 13—16, 1979.
  - 25) Spehlmann R., K. Norcross & E.J. Grimmer: G-ABA in the caudate nucleus: A possible synaptic transmitter of interneurons. *Experientia* 33 : 623—624, 1977.
  - 26) Szabo J.: Topical distribution of the striatal efferents in the monkey. *Exp. Neurol.* 5 : 21—36, 1962.
  - 27) Von Namba M.: Cytoarchitektonische Untersuchungen am Striatum. *J. Hirnforsch.* 3 : 24—48, 1957.
  - 28) Yoshida M. & W-Precht: Monosynaptic inhibition of neurons of the substantia nigra by caudato-nigral fibers. *Brain Res.* 32 : 225—228, 1971.

## □ Explanation of Figures □

**Fig. 1.** Electron micrograph of a large neuron showing the indented nucleus (arrow) and pronounced granular endoplasmic reticulum (er). The numerous lysosomes (l) are commonly seen in the cytoplasm.  $\times 6000$ .

**Fig. 2.** A medium-sized, polygonal neuron with some stem dendrites(d). There are small amount of cisternae of granular endoplasmic reticulum in the pale cytoplasm.  $\times 6000$ .

**Fig. 3.** Two medium-sized, ovoid neurons. Some Golgi cisternae(g) and granular endoplasmic reticulum are seen in the dark cytoplasm.  $\times 6000$ .

**Fig. 4.** A small neuron. The narrow surrounding area of cytoplasm has only scattered cisternae of granular endoplasmic reticulum (er) and little Golgi apparatus.  $\times 6000$ .

□ 0 | 회래 논문사진부도 ① □

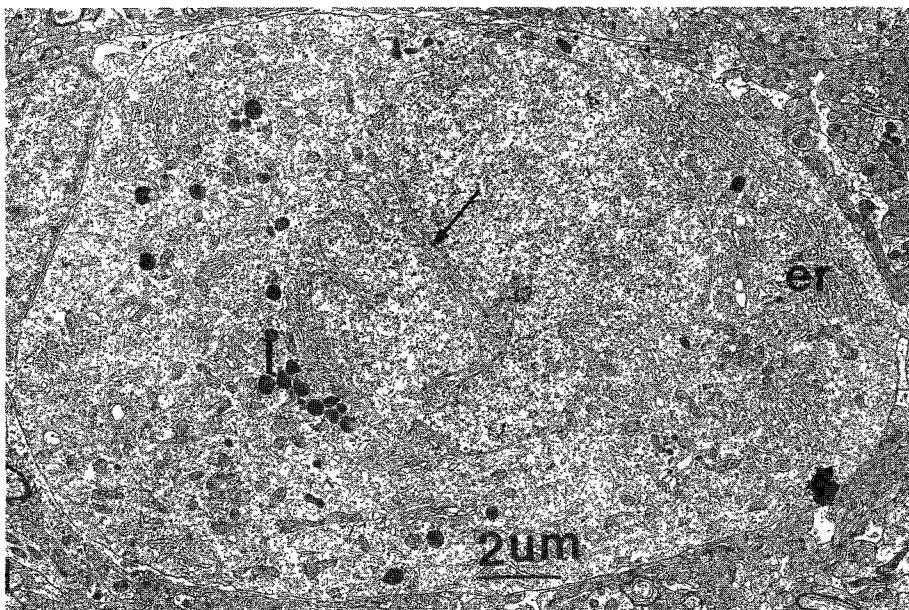


Fig.1.

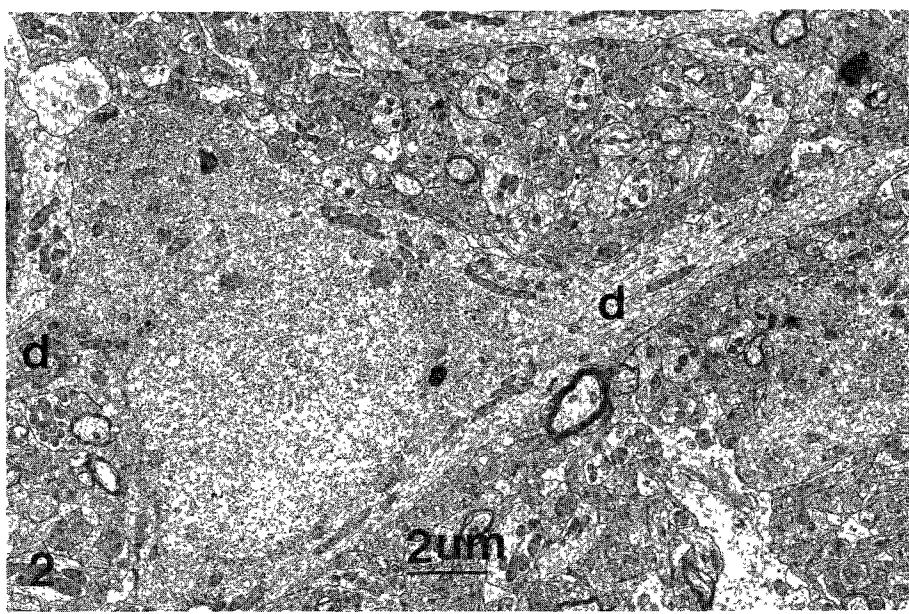


Fig.2.

□ 이희래 논문사진부도 ② □

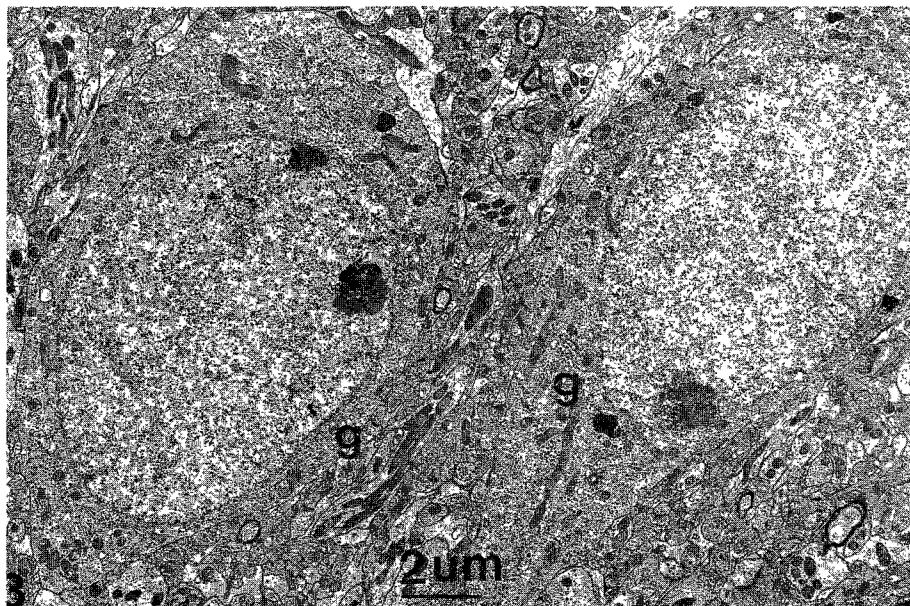


Fig. 3.

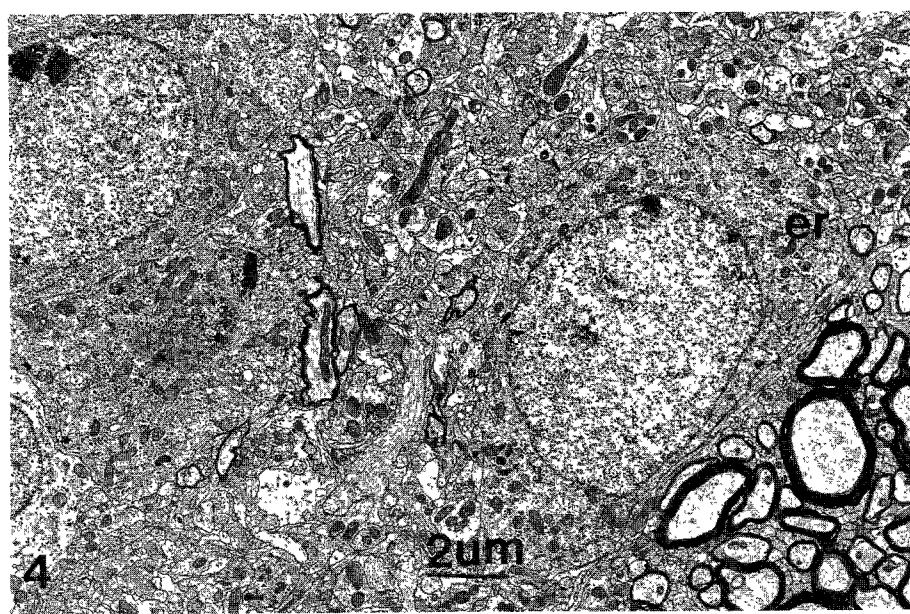


Fig. 4.